



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

ANEXO III

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Algodoneros (*Gossypium hirsutum* L.) genéticamente modificados (GM) SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, que contiene la acumulación de los eventos BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7.

El evento individual SYN-IR1Ø2-7 confiere protección frente al ataque de *Heliothis virescens*. La acumulación de eventos posee tolerancia a los herbicidas formulados en base a glufosinato de amonio (conferida por BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8), en base a glifosato (otorgada por BCS-GHØØ2-5), y protección frente el ataque de *Helicoverpa zea* y *Helicoverpa armigera* (conferida por BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7). La solicitud del evento individual SYN-IR1Ø2-7 fue presentada por Syngenta y la correspondiente a la acumulación de eventos por BASF Agricultural Solutions SAU. El presente Documento de Decisión incluye a los algodoneiros GM SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier algodoneiro no GM.

A partir del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación de los algodoneiros GM SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7.

El algodoneiro GM BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, que contiene la acumulación de los cuatro eventos de transformación BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7, fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales que contienen los eventos correspondientes. Asimismo, la CONABIA evaluó con anterioridad los eventos individuales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8; y la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8, y en todos los casos, emitió Documentos de Decisión favorables. Además, el evento individual BCS-



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

GHØØ2-5 enunciado precedentemente cuenta con autorización comercial por Res. SAGPyA N° 503/2015.

Los algodoneiros GM SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 han sido ensayados a campo en Argentina desde 2014 y 2011, respectivamente. Para tal fin fueron evaluadas por la CONABIA 2 (DOS) solicitudes de permisos para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema para el algodón SYN-IR1Ø2-7 y 11 (ONCE) para el acumulado que han cumplido con la normativa vigente para los Organismos Vegetales Genéticamente Modificados (OVGM), y han sido autorizadas por la entonces Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP) del Ex Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca y Secretaría de Agregado de Valor (SAV) del Ex Ministerio de Agroindustria.

El presente Documento de Decisión incluye a los algodoneiros GM SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier algodoneiro no GM.

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombre común y científico: Algodoneiro (*Gossypium hirsutum* L.)

2. Denominación del evento: SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas

SYN-IR1Ø2-7

El evento SYN-IR1Ø2-7 confiere protección frente al ataque de *Heliothis virescens*, otorgada por el producto de expresión del gen *vip3Aa19*.

En relación a la actividad insecticida de la proteína Vip3Aa19 sobre *Heliothis virescens*, fue demostrada durante ensayos en laboratorio y a campo en tres localidades de la Argentina.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

La acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 confiere tolerancia a los herbicidas formulados en base a glufosinato de amonio, otorgada por el producto de expresión del gen *bar* (PAT) (eventos BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8), a herbicidas formulados en base a glifosato, otorgada por el producto de expresión del gen *2mepsps* (evento BCS-GHØØ2-5), y protección frente al ataque de ciertas especies de insectos lepidópteros, otorgada por los productos de expresión de los genes *cry1Ab*, *cry2Ae* y *vip3Aa19* (eventos BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7, respectivamente). Particularmente, dicha acumulación presenta protección frente al ataque de *Helicoverpa zea* y *Helicoverpa armigera* otorgada por los productos de expresión de los genes *cry1Ab* (BCS-GHØØ4-7) y *cry2Ae* (BCS-GHØØ5-8). Además, la proteína Vip3Aa19 expresada por el evento SYN-IR1Ø2-7 le confiere protección frente al ataque de la plaga blanco *Heliothis virescens*.

La actividad biológica de la proteína PAT se comprobó oportunamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos parentales correspondientes y en la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8, y en todos los casos la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables. En cuanto a la actividad biológica de la proteína 2mEPSPS, ésta fue corroborada oportunamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación del evento parental BCS-GHØØ2-5, el cual cuenta con Documento de Decisión favorable de la CONABIA. Asimismo, las actividades biológicas de las proteínas 2mEPSPS y PAT se comprobaron durante el estudio de niveles de expresión (Sección II, 2.).

Las actividades insecticidas de las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae sobre insectos lepidópteros blanco, fue comprobada oportunamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos parentales y acumulación intermedia de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8, y en todos los casos la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables.

3.1. Modo de acción de los herbicidas

El glufosinato de amonio inhibe la actividad de la enzima glutamino sintetasa, compitiendo con el glutamato (sustrato natural) por el sitio activo, lugar donde ocurre la condensación de glutamato con amoníaco para dar glutamina. Esta inhibición evita la síntesis de L-glutamina, que no sólo es un precursor químico importante para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, sino que además funciona como mecanismo para la



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

incorporación de amoníaco en plantas. El tratamiento con glufosinato de amonio provoca la acumulación de amoníaco y el cese de la fotosíntesis.

El glifosato inhibe la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del corismato y compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). De esta manera, el tratamiento con glifosato priva a las plantas de aminoácidos esenciales y de metabolitos secundarios, como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K, necesarios para el crecimiento y normal desarrollo.

3.2. Descripción de las especies de insectos blanco

- *Helicoverpa zea* (= *Heliothis zea*), *Heliothis virescens* (= *Chloridea virescens*) y *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

Conforman el complejo de orugas capulleras. Son especies polífagas que se presentan en el algodón tanto en etapas tempranas como intermedias. Los adultos colocan los huevos individualmente en brotes terminales y en el tercio superior de la planta. El daño en el cultivo es producido por las larvas, se alimentan de hojas tiernas, botones florales y pequeñas cápsulas, en las que hacen un orificio y se introducen allí dentro.

3.3. Mecanismo de acción de los productos de expresión

Los mecanismos de acción de las proteínas PAT, 2mEPSPS, Cry1Ab y Cry2Ae, responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron evaluados oportunamente resultando en Documentos de Decisión favorables (BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8). En este punto se detallan brevemente, junto con el de Vip3Aa19 (SYN-IR1Ø2-7).

a. Proteínas que confieren tolerancia a herbicidas

La enzima fosfinotricina acetil transferasa (PAT), aportada por los eventos BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8, cataliza específicamente la acetilación del glufosinato de amonio en su extremo N-terminal generando una molécula inactiva. De esta manera, la tolerancia es conferida por la modificación del herbicida permitiendo a la planta continuar



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

con los procesos biológicos habituales. Es importante señalar que la enzima PAT no presenta actividad con el glutamato, cuya estructura es similar al glufosinato de amonio.

La proteína 2mEPSPS es una enzima homóloga a la EPSPS endógena del algodón (y otras plantas y microorganismos) pero a diferencia de ésta, posee mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que por el herbicida glifosato, permitiendo que la síntesis del corismato y de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

b. Proteínas insecticidas

Las proteínas Cry1Ab (BCS-GHØØ4-7), Cry2Ae (BCS-GHØØ5-8) y Vip3Aa19 (SYN-IR1Ø2-7) son toxinas con actividad insecticida que provienen de *Bacillus thuringiensis* y actúan sobre ciertas especies del Orden Lepidoptera. Las proteínas Cry se almacenan como cristales parasporales durante la formación de la espora, mientras que las proteínas Vip son producidas durante la etapa vegetativa de crecimiento (además de la etapa de esporulación) de la bacteria. Particularmente, la Vip3Aa19 es una versión modificada de la proteína Vip3Aa1, proveniente de la cepa AB88. Además, se sabe que la familia de proteínas Cry no comparte secuencia homóloga con las proteínas Vip. Una característica importante de estas proteínas es que son inocuas para vertebrados. Su modo de acción depende del reconocimiento de la proteína por receptores altamente específicos presentes en la microvellosidad de las células intestinales de los insectos blanco. Posteriormente, dichas proteínas se insertan en la membrana formando canales iónicos permeables a cationes que al acumularse generan un desbalance osmótico que lleva a la lisis celular con la consecuente muerte del insecto.

Se demostró en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos individuales BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y de la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8, que el espectro de actividad de las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae se encuentra acotado al Orden Lepidoptera. Por su parte, durante evaluación del evento SYN-IR1Ø2-7, objeto del presente documento, se comprobó que la actividad insecticida de la Vip3Aa19 está acotada al Orden Lepidoptera.

4. Modificaciones genéticas introducidas

4.1. Método de obtención del OVGM



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

SYN-IR1Ø2-7

El algodónero SYN-IR1Ø2-7 fue obtenido por transformación de *Gossypium hirsutum* L. (cultivar Coker 312), mediada por *A. tumefaciens*.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

El algodónero BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 es el resultado del cruzamiento convencional de los algodóneros conteniendo los eventos parentales.

Por su parte, los eventos parentales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7 fueron obtenidos a través de transformación mediada por *A. tumefaciens*.

4.2. Secuencias introducidas

SYN-IR1Ø2-7

A continuación, se detallan los elementos presentes en el inserto según su disposición en el evento SYN-IR1Ø2-7 y su función en el OVGM:

Elemento genético	Descripción	Función en el OVGM
Terminador NOS	Secuencia terminadora de la nopalina sintasa de <i>A. tumefaciens</i> .	Región que provee señales para la terminación de la transcripción. Provee sitio para poliadenilación.
<i>aph4</i>	Secuencia que codifica para la proteína higromicina B fosfotransferasa de <i>Escherichia coli</i> .	Es utilizado como marcador de selección durante el proceso de selección de las células transformantes, ya que permite el crecimiento de las mismas en presencia de higromicina.
<i>ubq3int</i>	Promotor de la ubiquitina-3 + primer intrón <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Promotor de transcripción. Provee expresión constitutiva de <i>aph4</i> .
<i>act2</i>	Promotor de la actina-2 + primer exón de <i>A. thaliana</i> .	Promotor de transcripción. Provee expresión constitutiva de <i>vip3Aa19</i> .
<i>vip3Aa19</i>	Secuencia que codifica para la proteína vegetativa de <i>Bacillus thuringiensis</i> AB88 modificada en la posición 284 (lisina) por glutamina.	Toxina con actividad insecticida que provee a la planta protección frente al ataque de insectos Lepidópteros.
Terminador NOS	Secuencia terminadora de la nopalina sintasa de <i>A. tumefaciens</i> .	Región que provee señales para la terminación de la transcripción. Provee sitio para poliadenilación.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

BCS-GH002-5 x BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8 x SYN-IR102-7

La información referente a los restantes eventos parentales (BCS-GH002-5, BCS-GH004-7 y BCS-GH005-8) fue analizada detalladamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables.

A continuación, se detallan los elementos genéticos responsables de conferir el fenotipo de cada uno de los eventos que forman parte de la acumulación objeto de este documento y su función en el OVGm:

Evento	Elemento genético	Función en el OVGm
BCS-GH002-5	<i>2mepsps</i>	Codifica para la proteína 2mEPSPS, que confiere tolerancia al herbicida glifosato.
	<i>pat</i>	Codifica para la proteína PAT, que confiere tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio.
BCS-GH008		
BCS-GH007	<i>cry1Ab</i>	Codifica para la proteína Cry1Ab, que confiere protección frente a ciertos insectos lepidópteros blanco.
BCS-GH005-8	<i>cry2Ae</i>	Codifica para la proteína Cry2Ae, que confiere protección frente a ciertos insectos lepidópteros blanco.
SYN-IR102-7	<i>vip3Aa</i>	Codifica para la proteína Vip3Aa19, que confiere protección frente a ciertos insectos lepidópteros blanco..
	<i>aph4</i>	Posibilita la selección de los transformantes en medios de cultivo conteniendo Higromicina B



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro de los insertos

SYN-IR1Ø2-7

La caracterización molecular confirmó que los genes y sus secuencias regulatorias, así como los elementos adicionales detallados anteriormente (Sección I, punto 4.2.), se encuentran formando parte de un único inserto, presente en una sola copia y que reside en un *locus* único en el genoma del algodónero SYN-IR1Ø2-7. Su inserción e integridad fueron verificadas mediante análisis de *Southern blot*, así como también por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*Polymerase Chain Reaction*) y posterior secuenciación.

El alineamiento de las secuencias del inserto con los elementos genéticos correspondientes en el plásmido de origen (pCOT1) mostró que éstos, así como también su organización y disposición se conservaron luego de la inserción. Además, se confirmó la ausencia de secuencias estructurales del vector por *Southern blot*.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

Los resultados del análisis molecular mediante PCR y secuenciación confirmaron que, luego del proceso de cruzamiento convencional que dio origen a la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su *locus* en el genoma.

Por otra parte, la integridad y el número de copias de los insertos, los rearrreglos dentro de los mismos y en sus correspondientes regiones flanqueantes han sido analizadas oportunamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos parentales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8, resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. No se espera que dichas características hayan cambiado como consecuencia del cruzamiento convencional empleado para obtener la acumulación de eventos.

4.4. Regiones flanqueantes a los insertos

SYN-IR1Ø2-7

Con el objetivo de estudiar las secuencias de ADN flanqueantes a los extremos 5' y 3' del inserto, se llevó a cabo un análisis bioinformático detallado. No se identificó en ellas identidad de secuencia con proteínas de algodón conocidas. Un estudio minucioso del sitio



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

de inserción en el genoma muestra que se produjo una delección de 82 pb en el genoma durante la integración. Adicionalmente, se identificó en el extremo 3' flanqueante una secuencia de 690 pb correspondiente al genoma de algodón pero no perteneciente al *locus* de integración.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

Los resultados del análisis molecular mediante la técnica molecular PCR y secuenciación confirman que, luego del proceso de cruzamiento convencional que dio origen a la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su *locus* en el genoma.

Por otra parte, la integridad y el número de copias de los insertos, los rearrreglos dentro de los mismos y en sus correspondientes regiones flanqueantes han sido evaluadas oportunamente en instancias de la Segunda Fase de Evaluación de los eventos individuales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8, resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. No se espera que éstas características hayan cambiado como consecuencia del cruzamiento convencional empleado para obtener la acumulación objeto de este documento.

5. Métodos de detección

SYN-IR1Ø2-7

La presencia del evento SYN-IR1Ø2-7 puede ser determinada experimentalmente de manera específica mediante la técnica molecular de PCR utilizando oligos específicos para el evento y analizando muestras de semilla/grano, hoja, forraje y todo subproducto que contenga ADN del algodónero SYN-IR1Ø2-7 con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada molecularmente mediante PCR o *Southern Blot* utilizando cebadores o sondas, respectivamente, específicos para cada evento. En este caso, el método se basa en la



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

detección de la presencia simultánea de cada uno de los eventos parentales a partir de ADN extraído de una única muestra biológica.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Estabilidad genética y fenotípica

SYN-IR1Ø2-7

La estabilidad genética del ADN insertado en el evento SYN-IR1Ø2-7 se verificó mediante estudios de *Southern blot* a lo largo de tres generaciones. Además, mediante una prueba de Chi-cuadrado, se compararon las proporciones de segregantes positivos y negativos observadas con las esperadas de acuerdo con los principios mendelianos de herencia en tres generaciones (F1, BC1F1 y BC4F1). Para tal fin, se identificó la secuencia del gen *vip3Aa19* por la técnica de TaqMan PCR en dichas generaciones. Este análisis de segregación demostró que, de acuerdo a lo esperado para un inserto integrado en un único *locus* de forma estable, el gen *vip3Aa19* se transfiere a la progenie siguiendo un patrón mendeliano simple. Adicionalmente, se cuantificó la concentración de la proteína Vip3Aa19 mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) en dichas generaciones. La consistencia entre los resultados obtenidos en ambos estudios demostró la estabilidad de la expresión de la proteína a lo largo de las diferentes generaciones.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

2. Productos de expresión de las secuencias introducidas

SYN-IR1Ø2-7

Durante la campaña 2001, se llevaron a cabo ensayos a campo en tres localidades de Estados Unidos que representan las principales áreas de producción de algodón y las diversas condiciones ambientales bajo las cuales se siembra este cultivo, con el objetivo de evaluar los niveles de expresión de las proteínas Vip3Aa19 y APH4 en el evento SYN-IR1Ø2-7.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Se analizaron diferentes muestras del mencionado evento (hojas, raíces, cápsulas, botón floral, semillas y fibras) en distintos estadios fenológicos: diferenciación floral, inicio de floración, floración total, apertura de la primera cápsula y pre-cosecha. Las muestras de polen y néctar fueron obtenidas a partir de estudios de invernáculo. La cuantificación de ambas proteínas se realizó mediante la técnica ELISA; no se identificó APH4 en la mayoría de las muestras (o se encontró en valores muy bajos para ser cuantificados), sólo se identificó en polen. Los resultados fueron expresados en microgramos (μg) de proteína por gramo (g) de peso seco y/o fresco, y se indicaron como los valores promedio (y desvío estándar) a través de las tres localidades (Tablas 1 y 2).

Tabla 1: Valores medios de Vip3Aa19 y APH4 en polen y néctar colectados en invernáculo. Se muestran valores medios en ($\mu\text{g}/\text{g}$ de néctar o de polen seco) +/- DS (desvío estándar).

Tejido	Vip3Aa19	APH4
polen	1,09	2,25
néctar	nd	nd

nd: no detectado.

Fuente: Syngenta Agro S.A.

Tabla 2: Niveles de expresión de la proteína Vip3A19 en diferentes muestras del evento SYN-IR102-7.(+/- DS)



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Tejido	Localidad	4-hojas	Desarrollo floral	Inicio de floración	Floración total	1ra cápsula	Pre-cosecha
Hojas	Georgia	15.08 ± 3.22 (9.39 – 15.08)	18.26 ± 4.92 (4 ^c ; 11.12 – 22.40)	9.86 ± 2.28 (7.66 – 13.31)	5.92 ± 2.84 (1.87 – 9.05)	X	3.29 ± 3.31 (2 ^d ; 0.95 – 5.63)
	Texas	18.51 ± 2.45 (15.47 – 20.78)	21.51 ± 2.06 (19.01 – 23.75)	10.78 ± 1.22 (9.99 – 12.92)	4.66 ± 0.84 (3.73 – 5.46)	8.82 ± 1.49 (6.79 – 10.68)	7.24 ± 1.18 (5.41 – 8.50)
	Arizona	12.35 ± 6.26 (1.20 – 15.90)	12.87 ± 3.39 (7.04 – 15.70)	8.56 ± 3.48 (3.94 – 13.31)	X	X	3.65 ± 1.94 (4 ^c ; 1.08 – 5.17)
Raíces	Georgia	1.27 ± 0.36 (0.82 – 1.78)	NA ^e	NA	1.18 ± 0.13 (1.01 – 1.35)	NA	1.21 ± 0.46 (0.53 – 1.78)
	Texas	1.57 ± 0.16 (1.31 – 1.73)	NA	NA	1.82 ± 0.69 (1.05 – 2.53)	NA	2.15 ± 0.32 (1.88 – 2.69)
	Arizona	< 1.33 (DNQ ^f – 1.86)	NA	NA	X	NA	< 0.17 (DNQ – 0.35)
Cápsulas	Georgia	---	---	---	1.09 ± 0.10 (0.94 – 1.19)	X	nd ^h
	Texas	---	---	---	1.38 ± 0.82 (0.44 – 2.18)	0.45 ± 0.17 (0.33 – 0.74)	< 0.20 (DNQ)
	Arizona	---	---	---	X	X	< 0.36 (DNQ – 0.47)
Botón floral	Georgia	---	NA	3.72 ± 1.25 (2.01 – 5.45)	2.77 ± 0.12 (2.58 – 2.85)	X	< 0.22 (DNQ)
	Texas	---	NA	1.64 ± 0.43 (0.88 – 1.92)	2.64 ± 0.93 (1.42 – 3.54)	2.10 ± 0.34 (1.69 – 2.41)	4.00 ± 1.48 (1.62 – 5.64)
	Arizona	---	NA	3.11 ± 0.41 (2.68 – 3.70)	X	X	1.51 ± 0.31 (1.17 – 2.01)
Planta entera	Georgia	13.22 ± 1.68 (11.70 – 15.13)	NA	4.53 ± 0.84 (3.63 – 5.91)	6.35 ± 0.35 (5.90 – 6.79)	X	0.72 ± 0.16 (0.47 – 0.86)
	Texas	12.37 ± 1.40 (10.53 – 14.30)	NA	5.46 ± 1.10 (4.24 – 6.86)	4.64 ± 0.75 (3.92 – 5.70)	5.28 ± 2.07 (1.87 – 7.36)	2.96 ± 1.04 (1.82 – 4.19)
	Arizona	10.75 ± 2.05 (7.72 – 12.65)	NA	5.16 ± 1.83 (2.39 – 7.49)	X	X	1.59 ± 0.35 (1.30 – 2.12)

a Los valores se determinaron por ELISA y no se corrigieron para la eficacia de la extracción. Todos los tejidos / control de plantas tenían VIP3A 0 ng / g de peso fresco.

b "X" indica que las muestras fueron desestimadas por haberse demostrado por PCR que correspondían a plantas no transgénicas.

c Porcentaje de peso en seco no determinado para una muestra, por lo que la conversión a base del peso fresco no se pudo calcular para la misma.

d Número de plantas analizadas fue <5 porque las hojas no estaban presentes en algunas plantas.

e "NA" = No se analizó

f "DNQ" = muestra detectables, no cuantificables por debajo del límite inferior de cuantificación (LOQ) especificados. Los medios se calcularon asumiendo que VIP3A estuvo presente a valores de LOQ para este tipo de muestras, y los valores precedidos por "<" indica que la media es inferior a la cantidad indicada.

g "----" = tejido no está disponible en este momento.

h "nd" = VIP3A se consideró no detectable debido a que la absorbancia media generada durante ELISA no excediera la de los controles.

Fuente: Syngenta Agro S.A.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

Durante la campaña 2013, se llevaron a cabo ensayos a campo en tres localidades de Estados Unidos que representan las principales áreas de producción de algodón y las diversas condiciones ambientales bajo las cuales se siembra este cultivo, con el objetivo de evaluar los niveles de expresión de las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, 2mEPSPS y APH4 en los parentales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7, las acumulaciones intermedias BCS-GHØØ5-8 x BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GHØØ4-7, y el acumulado objeto de este documento BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 (Tabla 3).

Se analizaron diferentes muestras (hoja, raíces, brácteas, polen, cápsulas, planta entera y semilla peluda) de la mencionada acumulación, provenientes de parcelas con y sin tratamiento de herbicidas glifosato o glufosinato de amonio, y múltiples estadios de crecimiento. La cuantificación de las proteínas se realizó mediante la técnica ELISA. Los resultados fueron expresados en microgramos (μg) de proteína por gramo (g) de peso seco y fresco, y se indicaron como los valores promedio (y desvío estándar) a través de las tres localidades. (Tablas 4-9)

Los niveles de expresión de las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, 2mEPSPS y APH4 fueron similares entre las distintas entradas independientemente del evento o tratamiento con herbicidas. Los niveles de expresión de PAT fueron mayores en las acumulaciones de eventos que los parentales individuales. Esto puede atribuirse a la presencia de una mayor dosis génica en las acumulaciones de eventos

Tabla 3. Descripción del ensayo para la detección de los niveles de expresión de las proteínas en los algodones BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C), BCS-GHØØ5-8 x BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GHØØ4-7 y sus parentales.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Entry ID	Description	Trait-Specific Herbicide Treatment(s)	Seed Lot Number
A	Non-GM FM966	None	13WAGH100041
B	GHB614	None	13WAGH100001
C	GHB614	glyphosate	13WAGH100001
D	GHB119	None	13PRGH050004
E	GHB119	glufosinate	13PRGH050004
F	T340-40	None	13PRGH050005
G	T340-40	glufosinate	13PRGH050005
H	COT102	None	13PRGH050007
I	TL	None	13LGGH001173
J	TL	glufosinate	13LGGH001173
K	GLT	None	13PRGH060005
L	GLT	glufosinate, glyphosate	13PRGH060005
M	GLT x COT102	None	13PRGH060001
N	GLT x COT102	glufosinate, glyphosate	13PRGH060001



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Tabla 4. Promedio de los niveles de expresión de la proteína Cry1Ab en los algodones BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) y BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) para las distintas muestras analizadas.

	GLTC	T304-40	TL	GLT
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas, planta entera y semilla peluda	0.63 - 26.26	1.71 - 33.04	2.41 - 34.05	2.05 - 41.70
Polen los valores se indican como peso fresco	0.01 - 0.42	0.07 - 0.51	0.03 - 0.24	0.05 - 0.28

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.

Tabla 5. Promedio de los niveles de expresión de la proteína Cry2Ae en los algodones BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C), BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) y BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) para las distintas muestras analizadas.

	GLTC	GHB619	TL	GLT
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas planta entera y semilla peluda	7.25 - 252.90	3.31 - 250.61	5.92 - 256.63	2.61 - 236.23
Polen los valores se indican como peso fresco	0.04 - 0.29	0.04 - 1.00	0.06 - 0.78	0.02 - 0.37

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Tabla 6. Promedio de los niveles de expresión de la proteína Vip3A19 en los algodoneos BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T), BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) y BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) para las distintas muestras analizadas.

	GLTC	COT102
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas planta entera y semilla peluda	5.02 - 509.95	6.99 - 480.56
Polen los valores se indican como peso fresco	0.23 - 0.66	0.18 - 1.11

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.

Tabla 7. Promedio de los niveles de expresión de la proteína APH4 en los algodoneos BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C) y SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C) para las distintas muestras analizadas.

	GLTC	COT102
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas planta entera y semilla peluda	(<LOD) - 0.83	(<LLOQ) - 0.56
Polen los valores se indican como peso fresco	Por debajo del límite de cuantificación	

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.

Tabla 8. Promedio de los niveles de expresión de la proteína 2mEPSPS en los algodoneos GM mencionados para las distintas muestras analizadas.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

	GLTC	GHB614	GTL
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas planta entera y semilla peluda	43.55 - 2068.93	19.81 - 2435.68	48.27 - 2245.51
Polen los valores se indican como peso fresco	0.70 - 16.91	1.72 - 16.38	1.94 - 11.97

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.

Tabla 9. Promedio de los niveles de expresión de la proteína PAT en los aldoneros BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x SYN-IR1Ø2-7 (COT102) (C), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T), BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L), BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) y BCS-GHØØ2-5 (GHB614) (G) x BCS-GHØØ5-8 (GHB119) (L) x BCS-GHØØ4-7 (T304-40) (T) para las distintas muestras analizadas.

	GLTC	T304-40	GHB119	TL	GLT
Rango de valores para hoja, brácteas, cápsulas planta entera y semilla peluda	167.25 - 2210.67	79.18 - 743.41	30.75 - 437.44	134.00 - 1721.39	141.10 - 1848.34
Polen los valores se indican como peso fresco	0.08 - 2.66	0.02 - 0.40	0.16 - 2.08	0.11 - 5.88	0.17 - 3.12

Todos los valores fueron determinados mediante la técnica de ELISA y están expresados en µg de proteína por g de materia seca salvo que se indique lo contrario.

Fuente de las tablas: Bayer CropScience LP.

3. Análisis del potencial tóxico o alergénico.

3.1 Productos de expresión:

SYN-IR1Ø2-7

Se determinó la similitud de secuencia con proteínas tóxicas o alergénicas conocidas comparando la secuencia de aminoácidos de Vip3Aa19 y APH4 contra la base de datos para alérgenos y toxinas.

Se utilizó el program BLASTP (alignments with Basic Local Alignment Search Tool for Proteins) para buscar secuencias de toxinas con similitud significativa con Vip3Aa19 o



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

APH4 en la base de datos de NCBI Entrez®. Ninguna de las proteínas identificadas en ambos estudios se corresponde con proteínas conocidas como toxinas.

Para determinar identidad de secuencia con alérgenos proteicos conocidos se realizaron dos tipos de análisis, consultando la base de datos FARRP. En primer lugar, se intentaron identificar similitudes de secuencia, usando el algoritmo FASTA versión 3.45 y las secuencias aminoacídicas completas de Vip3Aa19 y APH4. En segundo lugar, se utilizó un patrón de búsqueda de epítopes lineales cortos (ocho aminoácidos) similares a los presentes en proteínas conocidas como alérgenos. Los estudios bioinformáticos concluyeron que las proteínas Vip3Aa19 y APH4 no presentan similitud de secuencia con alérgenos conocidas.

El estudio de digestibilidad indicó que las proteínas Vip3Aa19 y APH4 se degradan completamente luego de un minuto de incubación en condiciones que simulan aquellas del sistema gástrico, no observándose las proteínas ni subproductos de las mismas mediante SDS PAGE y *Western blot*.

La termoestabilidad de las proteínas Vip3Aa19 y APH4 fue evaluada mediante un ensayo de actividad funcional utilizando ensayos de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* e inmunoreactividad mediante la técnica de ELISA, respectivamente. Los resultados mostraron que ambas proteínas son inestables cuando se las calienta a temperaturas mayores a 65°C y 170°C, respectivamente.

Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que Vip3Aa19 y APH4 tengan características tóxicas o alergénicas.

BCS-GH002-5 x BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8 x SYN-IR102-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

3.2. Nuevos péptidos hipotéticos:

SYN-IR102-7

Se estudió la presencia de nuevos marcos abiertos de lectura y/o péptidos hipotéticos que se hubiesen generado como consecuencia del proceso de integración en el evento



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

SYN-IR1Ø2-7, y se evaluó su potencial de alergenicidad y toxicidad. Para tal fin, se realizó el análisis bioinformático sobre una secuencia que comprende el inserto en conjunto con las secuencias flanqueantes 5' y 3'. El programa de búsqueda se utilizó para identificar la presencia de nuevos marcos abiertos de lectura de codón de terminación (stop) a codón de terminación. Se identificaron 12 secuencias aminoacídicas que podrían ser potencialmente generadas a partir de la traducción de las secuencias de unión 5' y 3' del ADN genómico con el inserto en todos los posible marcos de lectura.

Éstas fueron utilizadas como secuencias consulta en búsquedas de homología con toxinas y alérgenos conocidos. No se encontraron similitudes estructurales relevantes entre los péptidos putativos y secuencias de alérgenos y/o toxinas presentes en las bases de datos AD_2013, TOX_2013 y PRT_2013 y AD_2013.

Los resultados del análisis bioinformático señalan que aún en el improbable caso de que cualquiera de los polipéptidos hipotéticos codificados por la secuencia de los insertos y la secuencia del ADN genómico flanqueante del algodón GM resultaron traducidos, éstos no poseen similitud o identidad con secuencias con alérgenos o toxinas. Por ende, no existen evidencias para inferir que éstos puedan resultar alergénicos o tóxicos.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

4. Composición centesimal del OVG:

SYN-IR1Ø2-7

Se realizaron estudios composicionales comparativos a partir de muestras de semillas deslintadas del evento SYN-IR1Ø2-7 y de su contraparte convencional obtenidas de ensayos a campo realizados en seis localidades de Estados Unidos durante campaña 2007. Se determinaron los niveles de proximales (humedad, lípidos, proteínas, fibra dietaria total, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, carbohidratos y cenizas), aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitamina E y antinutrientes (gosipol total y libre, ácido estercúlico, ácido malválico y ácido dihidroestercúlico). Se realizó un análisis estadístico interlocalidades, el cual presentó diferencias estadísticamente significativas para algunos analitos. Sin embargo, todos los valores promedios obtenidos estuvieron dentro del rango de los valores reportados en la literatura científica, a excepción para el analito "humedad"



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

que se encontró levemente por encima del rango. No obstante, dicha diferencia no implica un riesgo al agroecosistema. Dado que las diferencias observadas se encuentran dentro de la variabilidad natural del cultivo, no fueron consideradas como biológicamente relevantes. Estos resultados se consideran indicativos de la ausencia de efectos no esperados producto de la transformación genética.

5. Potencial para producir impactos en el agroecosistema.

5.1. Comportamiento agrofenotípico

SYN-IR1Ø2-7

Se realizaron estudios agrofenotípicos comparativos entre el evento SYN-IR1Ø2-7 y su contraparte convencional en ocho sitios correspondientes a seis localidades de Estados Unidos durante la campañas 2012 y 2013 (cinco localidades durante el 2012 y tres durante el 2013), bajo diversas condiciones ambientales. Además, con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de algodón, se incluyeron un total de 15 variedades comerciales no GM como material de referencia. Los parámetros evaluados fueron: recuento inicial de plantas, vigor de plántula, inicio de floración, nudos por encima de la primer flor blanca, % de capullos abiertos a madurez, altura de planta, rendimiento, susceptibilidad a plagas y enfermedades.

Se realizó un análisis estadístico interlocalidades, en el cual se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el evento SYN-IR1Ø2-7 y su contraparte convencional en altura de planta. El evento presentó una mayor altura (92,37 cm) respecto a su contraparte convencional (87,84 cm). Sin embargo, dichos valores se encontraron dentro del rango de variedades de referencia. Por lo tanto, estas diferencias se consideran biológicamente irrelevantes.

Dada la diversidad de condiciones agroclimáticas evaluadas en Estados Unidos, donde se realizaron los estudios, se consideró que las conclusiones obtenidas son transportables a los efectos de la presente evaluación referida a una liberación comercial en la República Argentina. Asimismo, se concluye que el evento SYN-IR1Ø2-7 presenta un comportamiento agrofenotípico dentro de los rangos esperados.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

5.2. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

SYN-IR1Ø2-7

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición sobre las semillas del evento SYN-IR1Ø2-7 utilizando el protocolo de la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA), el cual recomienda una alternancia de temperatura de 20°C/30°C (20°C por 16 hs y 30°C por 8 hs) o de manera alternativa a temperatura constante 10°C.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las categorías evaluadas, entre los porcentajes de semillas del evento SYN-IR1Ø2-7 y los de su contraparte convencional.

Por lo tanto se concluye que el gen cuya expresión determina el fenotipo de protección frente al ataque de insectos lepidópteros sólo confiere una ventaja selectiva al algodón GM cuando se lo expone a la plaga mencionada, por ello no existe riesgo suficiente para que la planta adquiriera características de maleza.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

5.3. Organismos no blanco

SYN-IR1Ø2-7

La evaluación de posibles efectos de la proteína Vip3Aa19 sobre organismos no blanco pertenecientes a distintos grupos funcionales de artrópodos relevantes para el agroecosistema local, fue realizada en laboratorio y los organismos fueron expuestos a diferentes concentraciones de la proteína. Los resultados obtenidos confirmaron la ausencia de actividad en las especies consideradas. Al no existir hipótesis de riesgo asociadas a los restantes organismos que se hallan presentes en el agroecosistema local, no se considera necesaria la realización de estudios específicos para los mismos.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

5.4. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGM con otros organismos

SYN-IR1Ø2-7

La biología reproductiva del evento SYN-IR1Ø2-7 no es diferente a la del algodón no GM; además, hasta el momento no se han reportado en el país especies cultivables ni silvestres sexualmente compatibles.

A partir de la literatura científica disponible hasta el momento, se sabe que no existen casos de transferencia horizontal desde algodón hacia microorganismos, vectores virales o insectos. Por lo tanto, no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en el evento SYN-IR1Ø2-7.

Por otro lado, las características del evento SYN-IR1Ø2-7, al igual que cualquier otro algodón no GM, determinan que es improbable que pueda transferirse material genético desde los alimentos hacia los consumidores o los microorganismos presentes en su tracto digestivo, como consecuencia de su ingesta. Asimismo, la acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y, fundamentalmente, la ausencia de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde el organismo en cuestión hacia otros organismos, hace que esto sea aún menos probable.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

5.5. Patogenicidad para otros organismos

SYN-IR1Ø2-7

El algodón es reconocido como una especie no patógena para otros organismos, esta característica no se encuentra alterada en el algodón GM presente en este documento.

Por otro lado, si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el evento del algodón SYN-IR1Ø2-7 provienen de fitopatógenos, no se encuentran presentes en dicho evento secuencias que confieran las correspondientes características patogénicas de los



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto este evento de riesgos de patogenicidad.

Por todo lo expuesto en el punto 5, no hay evidencias que sugieran que existen efectos no intencionales derivados de la expresión del transgen del evento analizado que puedan resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

La información referida a este punto se encuentra detallada en la Sección II, punto 7.

6. Análisis de interacción de los productos de expresión

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas 2mEPSPS, PAT, APH4, Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 presentes en la acumulación de eventos considerando sus mecanismos de acción y niveles de expresión.

En primer lugar, a partir de la literatura científica, se sabe que las proteínas que confieren tolerancia a herbicidas (2mEPSPS y PAT) y los productos de expresión insecticidas (Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19) actúan en rutas metabólicas diferentes.

En segundo, se sabe que las enzimas 2mEPSPS y PAT, se encuentran involucradas en vías metabólicas distintas, y los sustratos y productos de las reacciones catalizadas por estas proteínas no se encuentran relacionados (Sección I, punto 3.3.). Además, actúan en distintos compartimientos subcelulares.

Para las tres proteínas insecticidas (Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19), se comprobó que su presencia simultánea en el algodón BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 no evidenció interacción entre las mismas.

Por su parte, la proteína Higromicina B fosfotransferasa (APH4), utilizada como marcador de selección durante el proceso de desarrollo del evento, cataliza la fosforilación de la Higromicina B. De esta forma, participa en ruta metabólica específica sin relación con las mencionadas anteriormente para las otras proteínas. Por tal motivo, no se espera interacción entre ella y las proteínas previamente citadas.

En cuanto a los niveles de expresión de las proteínas en la acumulación de eventos, no se observaron cambios relevantes en comparación con los eventos parentales (Sección II, punto 1).



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

Estos resultados tomados en conjunto constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las seis proteínas expresadas en la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7.

7. Formulación de hipótesis de riesgo ambiental

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

Los eventos parentales BCS-GHØØ2-5, BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y la acumulación intermedia de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 fueron evaluados en instancia de solicitudes previas concluyendo en todos los casos que:

- a) son estables genética y fenotípicamente a lo largo de las generaciones;
- b) se transfieren a la progenie siguiendo un patrón de herencia mendeliano simple;
- c) no presentan riesgo de transferencia horizontal o intercambio de genes con otros organismos;
- d) expresan productos que carecen de potencial tóxico o alergénico;
- e) no han generado nuevos marcos abiertos de lectura que muestran características tóxicas o alergénicas;
- f) no presentan diferencias biológicamente relevantes en comparación a sus homólogos convencionales salvo por la característica introducida;
- g) no poseen riesgo sobre organismos no blanco relevantes para el agroecosistema local;
- h) no presentan patogenicidad para otros organismos.

Como consecuencia de estas evaluaciones, la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables para los eventos parentales y la acumulación intermedia de eventos mencionados anteriormente.

8. Plan de Manejo de Resistencia de Insectos (MRI)



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

8.1. Propuesta de manejo para el retraso de la evolución de resistencia de los insectos

SYN-IR1Ø2-7

El solicitante desarrolló un plan de manejo del algodón SYN-IR1Ø2-7 con el fin de retrasar la selección de resistencia en la especie de lepidópteros que es más susceptible a la evolución de la misma: *Heliothis virescens*. El mismo se basó en modelos de simulación predictivos de la durabilidad de la eficacia de acción, contemplando tres escenarios (optimista, intermedio y conservativo) y teniendo en cuenta las conclusiones derivadas del análisis anterior, se considera necesario implementar un refugio estructurado en bloque, utilizando al menos un 50% de la superficie con un material no *Bt* de ciclo similar al cultivo *Bt*. La siembra debe ser realizada de manera adyacente al algodón SYN-IR1Ø2-7. En caso de aplicar insecticidas en el refugio, los mismos no deberán ser a base de *Bacillus thuringiensis*; además, se deberán tener en cuenta los principios de Manejo Integrado de Plagas (MIP) considerando el umbral de daño económico para cada plaga.

BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

El solicitante desarrolló un plan de manejo del algodón BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 con el fin de retrasar la selección de resistencia en las plagas blanco: *Helicoverpa zea* y *Helicoverpa armigera*.

Teniendo en cuenta que en esta acumulación de eventos se expresan tres proteínas insecticidas con mecanismos de acción independientes y que para el escenario más conservador del modelado de simulación predictivos de la durabilidad de la eficacia de acción del algodón GHB119 x T304-40 (Cry2Ae y Cry1Ab) presentado ante la US EPA se recomendó un 20% de refugio, para el algodón BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 se considera necesario implementar un refugio estructurado en bloque, utilizando al menos un 20% de la superficie con un material no *Bt* de ciclo similar al cultivo *Bt*. La siembra debe ser realizada de manera que no haya más de 800 metros continuos del algodón BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 sin refugio. En caso de aplicar insecticidas, deberá realizarse teniendo en cuenta los principios de MIP considerando el umbral de daño económico para cada plaga, no debiendo utilizarse en el refugio insecticidas microbianos a base de *Bacillus thuringiensis*.



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

Los planes desarrollados para el evento SYN-IR1Ø2-7 y para la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 se integran dentro de una estrategia de MIP en la cual se contempla el uso de múltiples herramientas:

- A. Rotación de cultivos.
- B. Monitoreo temprano de los lotes y mantenimiento del cultivo libre de malezas hospederas de la plaga.
- C. Tratamiento de semillas según necesidades regionales.
- D. Uso racional de insecticidas en un contexto de manejo integrado de plagas como complemento de la protección otorgada por las nuevas proteínas.
- E. Preservación de los enemigos naturales.
- F. Siembra, tipo y diseño espacial de refugio.

Los solicitantes desarrollarán Planes de Comunicación y Capacitación para los productores que será definido previo al lanzamiento del evento SYN-IR1Ø2-7 y de la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 e incluirán: demostraciones a campo, capacitaciones, reuniones con productores, visitas a establecimientos, publicación de información en la página web y entrega de material conteniendo la información antes mencionada, entre otros.

8.2. Procedimientos a seguir ante la posible aparición de resistencia

SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7

- A. Canales de comunicación disponibles para el productor.

Los solicitantes se comprometen a asesorar a los productores ante la suposición de una situación de daño no esperado en el cultivo, a través de los canales de ventas (distribuidores y vendedores) y de personal técnico presente en la zona.

- B. De comprobarse el daño no esperado se deberá notificar al SINAVIMO (SENASA) y al INASE.

- C. Estudios y/o pasos para confirmar la resistencia.

En caso de daño mayor a lo esperado, los solicitantes deberán confirmar:



*Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria*

- el origen del mismo;
- la identidad del material vegetal;
- la identificación taxonómica de la especie causante del daño.

Además, deberán realizar los bioensayos pertinentes para determinar la pérdida de susceptibilidad. Si se confirmara la supervivencia de los insectos, deberán realizar los estudios genéticos correspondientes para determinar el tipo de herencia de la característica.

D. Acciones a tomar en caso de confirmarse la resistencia de insectos:

i. Se fijarán objetivos de la estrategia de contención en función de la ecología y biología de la plaga en cuestión, las características geográficas, ambientales y productivas de la zona en donde se desarrolle la problemática. Asimismo, se establecerán alternativas para reducir y/o controlar el ecotipo resistente de la plaga. Si bien de acuerdo a la problemáticas se pueden desarrollar recomendaciones específicas, se citan sugerencias generales tales como el monitoreo de los cultivos, atención a los umbrales de daño, aplicaciones de insecticidas de ser superado el umbral, y todas las incluidas dentro de los principios de Buenas Prácticas de Manejo y de MIP en particular.

ii. Se trabajará con clientes y agencias de extensión informando de la situación y de las recomendaciones a los involucrados a través de comunicados o presentando información en reuniones y capacitaciones.

iii. Se asesorará a los productores para que implementen las acciones propuestas. Se realizarán recorridos y monitoreos de las zonas afectadas y reuniones informativas.

iv. Comunicación con agencias regulatorias y gubernamentales pertinentes: se utilizarán los canales oficiales para la presentación de la información obtenida y las estrategias de manejo planeadas, de acuerdo a las competencias de cada agencia regulatoria y gubernamental involucrada en la problemática.

CONCLUSIÓN

Considerando que se ha finalizado el análisis del conjunto de la información presentada en relación al evento individual SYN-IR1Ø2-7 y a la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, y que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación a gran escala de los mencionados algodoneiros GM no difieren significativamente de los inherentes al cultivo del algodón no GM, la Comisión



Ministerio de Producción y Trabajo
Secretaría de Gobierno de Agroindustria

concluye que los algodoneros (*Gossypium hirsutum* L.) SYN-IR1Ø2-7 y BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 no presentarán efectos adversos sobre el agroecosistema.

De esta evaluación, se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación de los mencionados algodoneros GM al agroecosistema, en cultivo a gran escala, no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de algodón no GM.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 21 de marzo de 2019.